

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Pada penelitian ini menggunakan eksperimental laboratorik dengan metode *post-test only with control group design*.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di laboratorium biomedik fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta pada bulan November 2016.

#### **C. Subjek & Objek Penelitian**

Subjek penelitian ini adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO). *Virgin Coconut Oil* (VCO) diperoleh dari merek V-GOLD yang diproduksi oleh PEO'S VCO yang memiliki izin P.IRT no 20533012010131-20 yang diproduksi di Cilacap, Jawa Tengah.

Pada penelitian ini digunakan hewan uji mencit putih jantan galur swiss yang berumur kurang lebih kurang dari 5 minggu dengan berat badan antara 20 sampai 30 gram. Untuk mengurangi hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, maka digunakan mencit putih dengan galur, lingkungan, dan makanan yang sama. Mencit didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta dan diberikan bahan makanan berupa pelet.

#### D. Estimasi Besar Sample

Hewan uji dibagi dalam lima kelompok, yang dilakukan dengan menggunakan metode *Complete Randomized design*. Pada penggunaan metode ini dilakukan pembagian nomor pada hewan uji, kemudian dilakukan pengundian. Jumlah minimal per kelompok menggunakan rumus federer

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Dimana:  $t$  = kelompok perlakuan = 5

$n$  = jumlah sampel per kelompok

maka:  $(t-1)(n-1) \geq 15$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75 \sim 5$$

Total jumlah mencit yang akan digunakan dalam penelitian ini berjumlah 30 ekor mencit putih jantan galur swiss, masing-masing untuk 5 kelompok perlakuan.

##### 1. Persiapan Hewan Uji

Sebelum digunakan, hewan uji akan diaklimatisasi di kandang hewan selama satu minggu yang bertujuan agar hewan uji dapat beradaptasi dengan lingkungan baru. Pada tahap ini hewan uji diperhatikan keadaan umumnya seperti berat badan dan keadaan fisiknya. Ciri-ciri mencit putih yang sehat bisa dilihat dari bulunya yang bersih dan tidak berdiri, mata yang jernih bersinar, dan berat badan bertambah ataupun berkurang setiap harinya. mencit putih yang telah dikategorikan sehat

dikelompokkan secara acak dan dengan jumlah 5 ekor per kelompoknya.

## 2. Persiapan Bahan Uji

### 3.4.3.1. Dosis Minyak Kelapa Murni

Dosis yang diberikan yaitu 1500,3000, dan 6000 mg/kgBB P.O. mencit putih dengan berat badan kira-kira 20 gram sehingga:

Dosis 1 = VCO setara dengan 0,15 ml

Dosis 2 = VCO setara dengan 0,3 ml

Dosis 3 = VCO setara dengan 0,6 ml

### 3.4.3.2. Pembuatan Larutan Asam Asetat

Asam asetat glasial mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% b/b asam asetat (FI IV, 1995). Dari asam asetat glasial dibuat asam asetat 0,4%, 0,6% dan 0,8% dengan metode pengenceran menggunakan NaCl fisiologis sebagai pelarut.

## 3. Pelaksanaan Percobaan

Pada penelitian ini digunakan metode Sigmund, yaitu diinduksi secara kimia menggunakan asam asetat. Sebelum uji efek analgesik, dilakukan uji pendahuluan pertama dan uji kepekaan mencit putih, untuk menyeleksi hewan uji yang diikutsertakan dalam uji selanjutnya.

## E. Kriteria Retriksi

### Kriteria Inklusi

- Mencit Putih Jantan Galur Swiss
- Umur kurang lebih 2-3 bulan
- Berat badan antara 20-25 gram
- Sehat dan beraktifitas normal

### Kriteria Eksklusi

- Mencit sakit saat penelitian berlangsung

- Mencit mati saat penelitian ini berlangsung

## F. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : *Virgin Coconut Oil*
2. Variabel Terikat : Efek Analgesik
3. Variabel Perancu :
 

Terkendali	: Galur hewan uji, usia hewan, jenis kelamin
	hewan, makanan dan suhu.
Tak Terkendali	: Stress dan genetik.

## G. Definisi Operasional

1. *Virgin Coconut Oil*

*Virgin coconut oil* merupakan minyak kelapa murni yang diperoleh dari kelapa asli tanpa melalui teknik kopra atau pemanasan terlebih dahulu.

2. Efek Analgesik

Efek analgesik dilihat dari geliat mencit yang memanjangkan kedua kaki dan abdomen menyentuh lantai, yang muncul setelah diinduksi asam asetat glasial. Berdasarkan penelitian sebelumnya dikatakan 0,6 ml asam asetat 0,6% sudah menimbulkan rasa nyeri yang ditunjukkan dengan adanya geliat. Oleh karena itu 3 kelompok mencit putih diinduksi sebanyak 0,2 ml/ 20 g BB mencit secara intraperitoneal.

3. Kontrol Positif

Ibuprofen merupakan obat analgesik golongan non opioid yang berefek menghilangkan rasa nyeri. Dosis yang dipakai 450mg/Kg bb.

#### 4. Kontrol Negatif

Aquades merupakan air mineral murni yang bersifat sebagai pelarut.

### H. Instrumen Penelitian

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang timbangan hewan jarum suntik, spuit, stopwatch.

#### 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain mencit putih jantan galur swiss, VCO, dan asam asetat glacial.

### I. Cara Kerja

#### 1. Prinsip Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode sigmund. Induksi asam asetat dilakukan secara intra peritoneal sebanyak 0,2 mL/ 20g BB mencit putih. Reaksi nyeri dilihat dari geliat mencit putih yaitu abdomen menyentuh dasar tempat berpijak dan diikuti kedua pasang kaki ditarik kebelakang. Setelah sepuluh menit interval waktu diamati dan dicatat jumlah geliatnya yang terjadi pada mencit putih.

#### 2. Prosedur Uji Analgesik

Uji analgesik minyak kelapa murni terhadap hewan coba akan dilakukan dengan prosedur berikut:

- a) Mencit putih dipuasakan selama  $\pm$  18 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan.
- b) Pada hari pengujian, mencit putih ditimbang bobotnya dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok

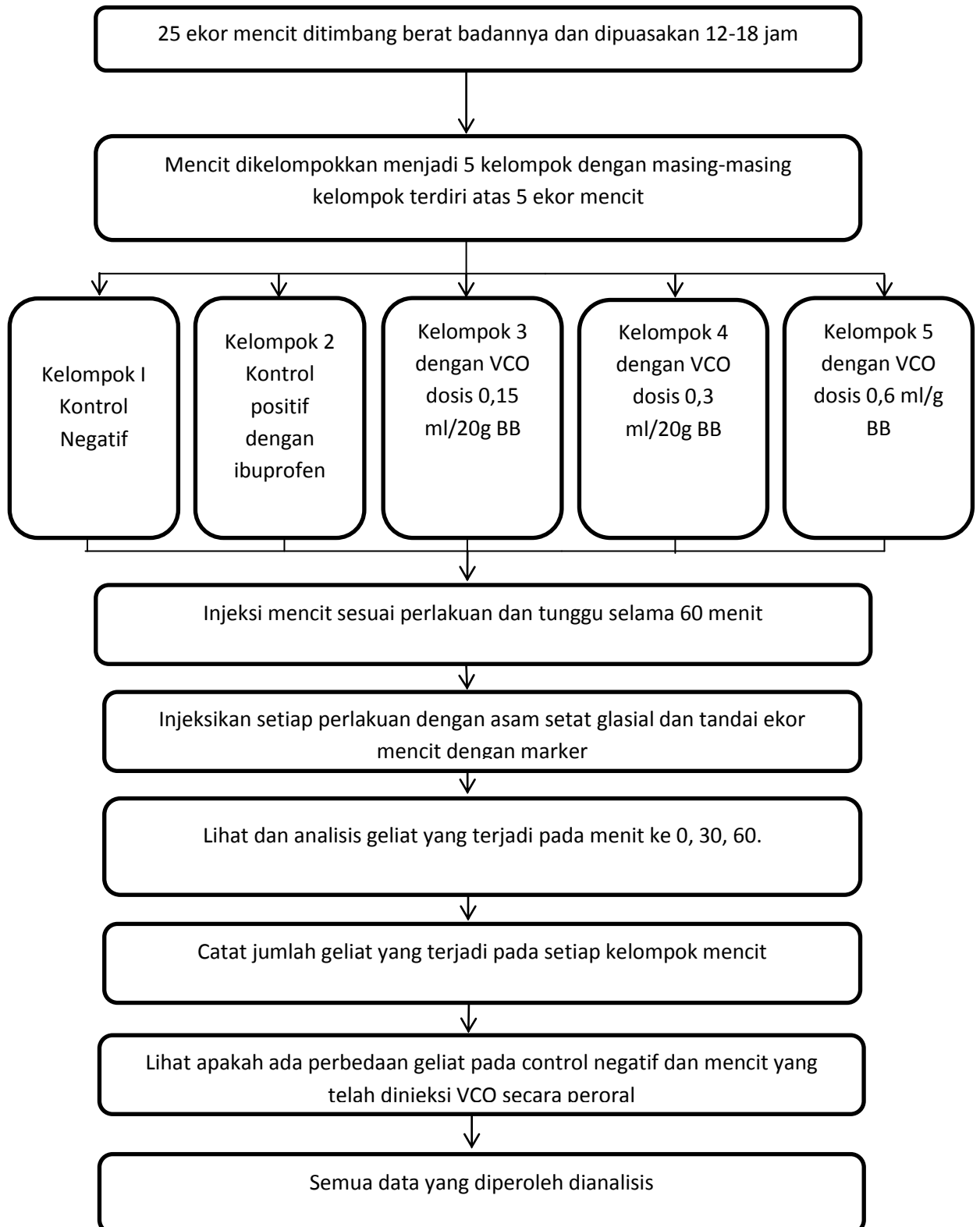
dengan jumlah mencit putih masing-masing kelompok 5 mencit putih.

- c) Pada kelompok kontrol negatif, setiap mencit putih diberi aquades sebanyak 0,2 ml/20 kg BB mencit putih secara per oral dan diinduksikan asam asetat secara intraperitoneal.
- d) Pada kelompok kontrol positif, setiap mencit putih diberi ibuprofen sebanyak 13 mg/20 g BB mencit putih secara oral dan diinduksi asam asetat secara intraperitoneal.
- e) Pada masing-masing kelompok uji dosis 1,2, dan 3 diberi bahan uji yang telah diatur sehingga sesuai dengan dosisnya dan kemudian diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal.
- f) Setelah selang 10 menit, hitunglah jumlah geliat dari mencit putih dengan interval waktu selama 5 menit selama satu jam.
- g) Semua data yang diperoleh dicatat, dianalisa secara statistik kemudian dihitung presentase proteksi serta presentase efektivitas analgesik.

## **J. Analisis Data**

Data yang telah diperoleh dari penelitian dianalisis dengan uji shapiro-wilk untuk melihat distribusi data dan uji levene untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak terpenuhi, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis untuk melihat adanya perbedaan, selanjutnya dilakukan uji mann-whitney (Setiawan, 2005).

## K. Skema Penelitian



**L. Jadwal Penelitian**

	JUN	JUL	AGU	SEP	OKT	NOV	DES	JAN
Penyusunan Proposal								
Ujian Proposal								
Perbaikan Proposal								
Pengambilan data								
Pengolahan dan analisis data								
Penyusunan skripsi								
Ujian skripsi								
Perbaikan skripsi								